

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
19 de Febrero de 2004 (19.02.2004)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2004/014915 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷:

C07D 487/04, 513/04, 277/04, A61K
31/4188, 31/381, A61P 9/10 // (C07D 487/04, 209/00,
235/00) (C07D 513/04, 235/00, 277/00), 311/58

Angel [ES/ES]; Jazmín 34, E-28033 Madrid (ES). DEL-GADO WALLACE, Mercedes [ES/ES]; San Vicente 15, E-28220 Majadahonda, Madrid (ES).

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2003/000394

(74) Mandatarios: DE JUSTO, V. etc.; c/O Jacobacci & Partners M. & J. de Justo, Castellana 128, E-28046 Madrid (ES).

(22) Fecha de presentación internacional:

29 de Julio de 2003 (29.07.2003)

(81) Estados designados (*nacional*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P200201811 31 de Julio de 2002 (31.07.2002) ES

(84) Estados designados (*regional*): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Solicitante (*para todos los Estados designados salvo US*): CEPA SCHWARZ PHARMA S.L. [ES/ES]; Catellana, 141, E-28046 Madrid (ES).

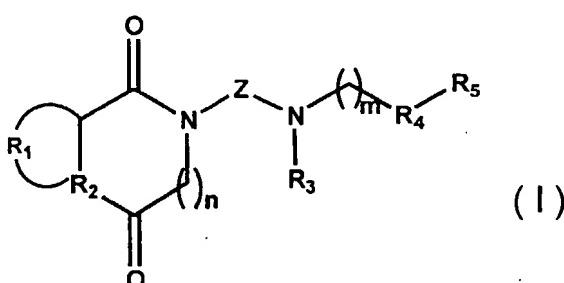
Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: NOVEL DERIVATIVES OF CYCLOALCANODIONES, METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF AND THEIR PHARMACOLOGICAL APPLICATIONS

(54) Título: NUEVOS DERIVADOS DE CICLOALCANODIONAS PROCEDIMIENTO PARA SU PREPARACIÓN Y SUS APPLICACIONES FARMACOLÓGICAS



(57) Abstract: The invention relates to novel cycloalcanodione derivatives which are agonists of serotonin receptor subtype (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 5-HT_{1A} and which are hence useful in the treatment of pathological states for which an agonist of said receptors is indicated. Said derivatives are particularly useful as neuroprotective agents, more particularly in the treatment and prophylaxis of cerebral damage caused by ischemic or traumatic stroke. Said cycloalcanodione derivatives generally correspond to formula (I).

(57) Resumen: Nuevos derivados de cicloalcanodionas que son agonistas del subtipo de receptor de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) 5-HT_{1A} y que, consiguientemente, son útiles en el tratamiento de estados patológicos para los que está indicado un agonista de estos receptores. Particularmente, son útiles como agentes neuroprotectores, de especial interés en el tratamiento y profilaxis del daño cerebral producido por el ictus isquémico o traumático. De forma general, dichos derivados de cicloalcanodiona corresponden a la fórmula I.

- 1 -

NUEVOS DERIVADOS DE CICLOALCANODIONAS, PROCEDIMIENTO PARA
SU PREPARACIÓN Y SUS APLICACIONES FARMACOLÓGICAS

DESCRIPCIÓN

5

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a nuevos compuestos químicos, su preparación, formulaciones farmacéuticas que los contienen y su uso en medicina, particularmente la presente invención se refiere a nuevos derivados de cicloalcanodionas que son agonistas del subtipo de receptor de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) 5-HT_{1A}. Por lo tanto, son útiles en el tratamiento de estados patológicos para los que está indicado un agonista de estos receptores.

En particular, los compuestos de la presente invención son útiles como agentes neuroprotectores, lo cual les confiere un especial interés en el tratamiento y profilaxis del daño cerebral producido por el ictus isquémico o traumático.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

25

Las posibilidades farmacológicas para el tratamiento del ictus cerebral agudo son muy limitadas; hasta la fecha, sólo la terapia trombolítica mediante el activador del plasminógeno tisular (t-PA) puede resultar de una moderada eficacia. Si bien el daño celular primario producido por la isquemia no es susceptible de tratamiento, sí cabe la posibilidad de actuar sobre la muerte neuronal secundaria en la zona de penumbra, donde tienen lugar una serie de procesos que amplían el daño. Entre ellos, se ha prestado una particular atención a la liberación masiva de aminoácidos excitatorios, y en este

- 2 -

sentido, fármacos que previenen la liberación de glutamato, antagonistas de receptores de glutamato, tanto de receptores NMDA como AMPA, resultan eficaces en distintos modelos experimentales.

5

Hasta el momento, se conocen 14 subtipos diferentes de receptores serotonérgicos. Los receptores 5-HT_{1A}, cuya localización es tanto presináptica como postsináptica, son la diana de un grupo de fármacos ansiolíticos y 10 quizás estén también implicados en las acciones de determinados fármacos antidepresivos.

En el documento ES 2052829 se describen aminoetiltetralinas substituidas y análogos heterocíclicos como agonistas selectivos de los receptores serotonérgicos del subtipo 5-HT_{1A}. Uno de los productos descritos en dicho documento, BAYx3702, ha demostrado experimentalmente, tanto *in vitro* (Suchanek y otros, 1998; Ahlemeyer y otros, 1999) como *in vivo* 20 (Schaper y otros, 2000; Torup y otros, 2000; Kline y otros, 2001), su efecto neuroprotector debido a su acción agonista sobre el receptor 5-HT_{1A}.

En la solicitud de patente española nº 200102113, 25 de los mismos autores de la presente invención, se describen una serie de compuestos que se comportaron como agonistas puros del receptor 5-HT_{1A}, aunque con una potencia sólo moderada, en los que sólo se pudo poner de manifiesto su acción neuroprotectora utilizando cultivos neuronales primarios de rata.

El efecto neuroprotector de los agonistas del receptor 5-HT_{1A}, puede ser debido a distintos mecanismos, entre los que destacan la hiperpolarización por 35 activación de canales de K⁺, la inhibición de la liberación de glutamato (Matsuyama y otros, 1996; Mauler

- 3 -

y otros, 2001) y el aumento en la expresión de la neurotrofina BDNF (Galter y otros, 2000).

Los datos citados anteriormente permiten predecir una nueva aplicación para los compuestos capaces de activar los receptores 5-HT_{1A}, a saber, su empleo para el tratamiento del daño cerebral asociado a procesos de isquemia/hipoxia o accidentes traumáticos. Por lo tanto, resulta de gran interés disponer de nuevos compuestos agonistas de los receptores serotonérgicos 5-HT_{1A} que tengan efectos neuroprotectores, y que puedan proporcionar un tratamiento eficaz contra el daño cerebral asociado a procesos de isquemia/hipoxia o a traumatismos craneoencefálicos.

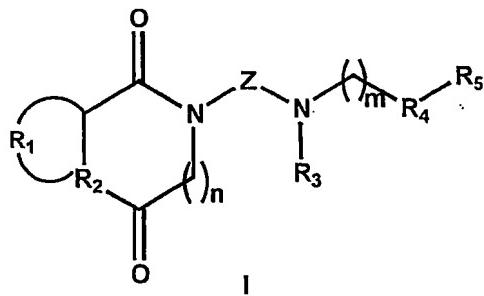
15

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención, tal y como se indica en su enunciado, se refiere a nuevos derivados de cicloalcanodionas, al procedimiento para su preparación y a sus aplicaciones farmacológicas.

En un primer aspecto de la presente invención, dichos derivados de cicloalcanodiona se caracterizan porque se corresponden a la fórmula general I:

30



donde:
35 R₁ se selecciona entre el grupo formado por H, -(CH₂)₃-, -(CH₂)₄-, -CH₂-S-CH₂, -S-CH₂-CH₂-;

- 4 -

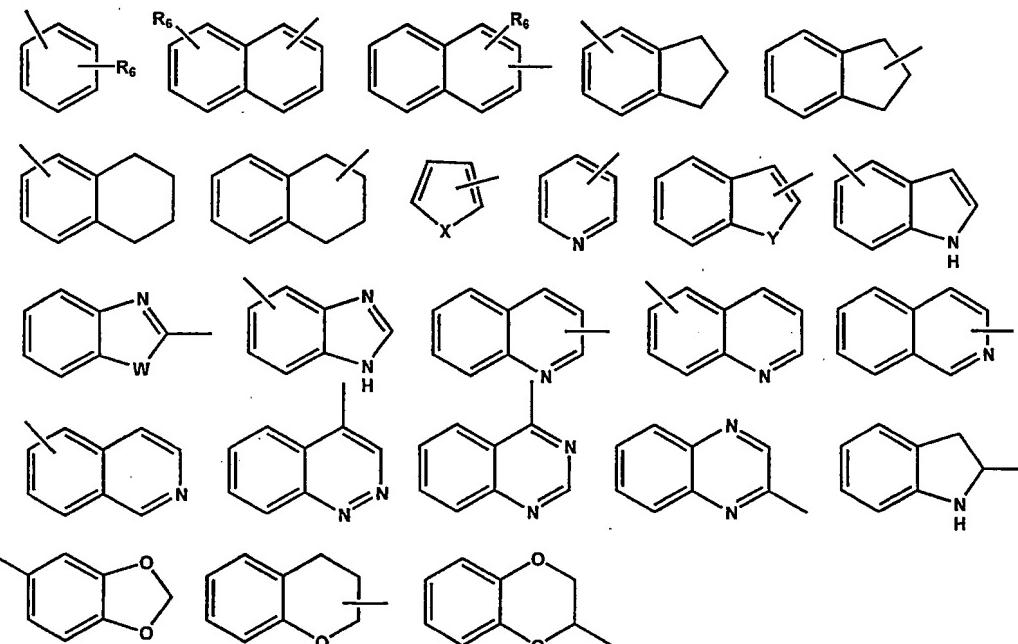
- R₂ se selecciona entre el grupo formado por N, S;
n tiene un valor de 0 ó 1;
- Z se selecciona entre el grupo formado por C₂-C₁₀-alquilo, C₂-C₁₀-alquenilo, C₂-C₁₀-alquinilo;
- 5 R₃ se selecciona entre el grupo formado por H, C₁-C₁₀-alquilo, arilo, aralquilo;
m tiene un valor de 0 a 2;
- R₄ se selecciona entre el grupo formado por O, CH₂;
- R₅ se selecciona entre el grupo formado por:

10

15

20

25



donde:

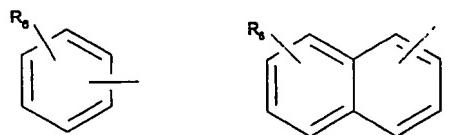
- R₆ se selecciona entre el grupo formado por H, C₁-C₅-alquilo, C₁-C₅-alcoxilo, OH, F, Cl, Br, I;
- X se selecciona entre el grupo formado por O, S, NH,
30 NCH₃;
- Y se selecciona entre el grupo formado por O, NH;
- W se selecciona entre el grupo formado por S, NH.

En una realización preferida de la presente
35 invención, los compuestos de fórmula (I) son aquellos

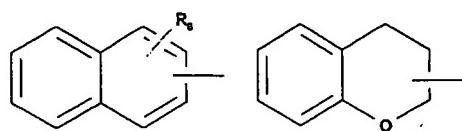
- 5 -

donde: Z representa un grupo C2-C10-alquilo y R₅ se selecciona entre el grupo formado por:

5



10

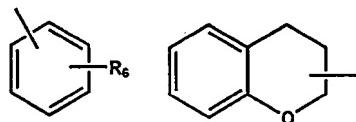


donde las definiciones de R₁, R₂, R₃, n, m, R₄ y R₆ son idénticas a las realizadas anteriormente.

15

Aún más preferidos son los compuestos de fórmula (I) donde: Z es butilo, R₃ es H y R₅ se selecciona entre el grupo formado por:

20



donde las definiciones de R₁, R₂, n, m, R₄ y R₆ son idénticas a las realizadas anteriormente.

25

A menos que se indique de otra forma, los grupos alquilo a los que se hace referencia en la presente invención, así como los restos alquilo de otros grupos a los que se hace referencia en la presente invención (por ejemplo alcoxilo), podrían ser lineales o ramificados, y también podrían ser cílicos (por ejemplo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo), o ser lineales o ramificados y contener estos restos cílicos.

35

A menos que se indique de otra forma, los grupos alquenilo a los que se hace referencia en la presente

- 6 -

invención son lineales (por ejemplo 1-propenil, 2-butenil) y sus formas isómeras.

A menos que se indique de otra forma, los grupos 5 alquinilo a los que se hace referencia en la presente invención son lineales (por ejemplo 2-butinil).

El término arilo incluye cualquier grupo aromático monocíclico conteniendo de 5 a 12 átomos de carbono, 10 opcionalmente interrumpidos por uno o varios heteroátomos seleccionados entre N, O ó S.

El término aralquil se refiere a un grupo arilo unido a un grupo alquilo definido con anterioridad, tal 15 como bencilo ó fenetilo.

En el ámbito de la presente invención, los compuestos según la invención pueden tener varios átomos de carbono asimétricos y por lo tanto se presentan en 20 diversas formas estereoquímicas. Los compuestos según la invención pueden presentarse también en forma de sus sales. En general pueden citarse sus sales con ácidos inorgánicos u orgánicos.

25 En el ámbito de la presente invención serán preferentes las sales fisiológicamente compatibles. Son especialmente preferentes por ejemplo las sales con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, 30 ácido *o*-toluenosulfónico, ácido *m*-toluenosulfónico, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido *o*-naftalenosulfónico, ácido *m*-naftalenosulfónico, ácido *p*-naftalenosulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido malélico, ácido fumárico, ácido málico, 35 ácido tartárico, ácido cítrico o ácido benzoico.

- 7 -

Los compuestos con potente acción agonista sobre el receptor 5-HT_{1A} descritos en la presente invención representan por lo tanto productos eficaces para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central que incluyen los trastornos de ansiedad, distintas formas de depresión y trastornos mixtos de ansiedad-depresión tales como los trastornos obsesivo-compulsivos, las fobias, la bulimia, etc. También son adecuados para la profilaxis y el tratamiento del daño neuronal en los episodios de infarto cerebral, al promover la supervivencia de las células localizadas en el área de penumbra que rodea al foco isquémico.

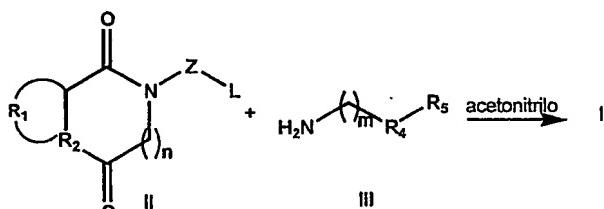
Los nuevos productos activos pueden transformarse de manera conocida en formulaciones usuales, tales como comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, píldoras, granulados, microgránulos, aerosoles, jarabes, emulsiones, suspensiones y soluciones, con empleo de excipientes o disolventes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados. En este caso debe estar presente el compuesto terapéuticamente activo respectivamente en una concentración de aproximadamente 0,5 hasta 90% en peso de la mezcla total, es decir en cantidades que sean suficientes para alcanzar el intervalo de dosificación indicado.

Los compuestos que aquí se describen son agonistas puros del receptor serotonérgico 5-HT_{1A}, lo que se ha puesto de manifiesto mediante estudios funcionales adecuados. Como consecuencia, los compuestos objeto de la presente invención presentan un efecto protector sobre la muerte neuronal de carácter apoptótico o necrótico inducida por deprivación de suero o por glutamato en cultivos neuronales.

- 8 -

Según otro aspecto de la presente invención se proporcionan dos procedimientos alternativos para la preparación de los compuestos de fórmula general I: por reacción de derivados halogenados intermedios II ($L = Cl, Br$) con aminas adecuadas III en acetonitrilo como disolvente de la reacción (Esquema I siguiente), o por reacción de aminas intermedias IV con derivados halogenados adecuados V ($L = Cl, Br$) en acetonitrilo como disolvente de la reacción (Esquema II siguiente).

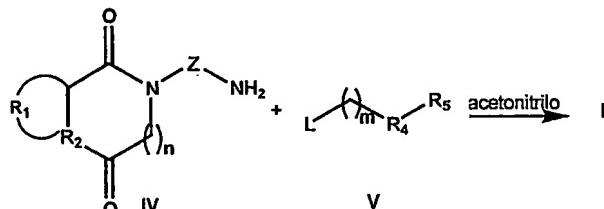
10



15

Esquema I

20



Esquema II

25

Los compuestos con R_3 distinto de H se obtienen por alquilación de los análogos en los que R_3 es hidrógeno.

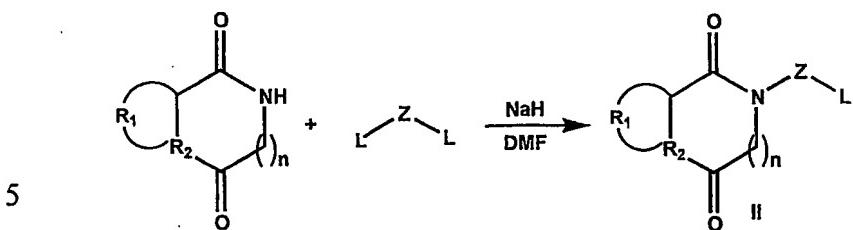
30

Las definiciones de R_1 , R_2 , n , Z , m , R_4 y R_5 en estos esquemas son idénticas a las realizadas anteriormente para los productos de la invención.

35

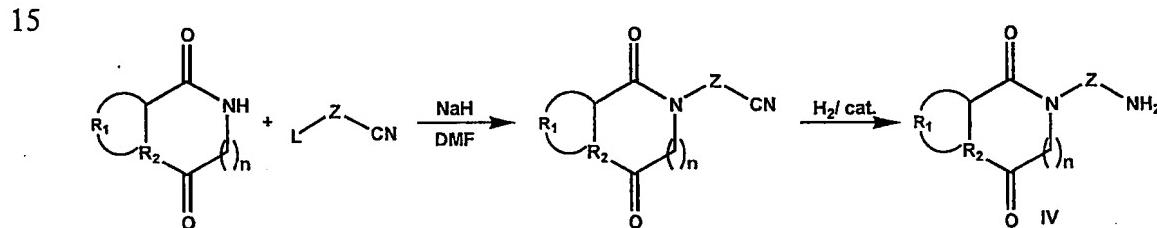
Los intermedios de fórmula II se obtienen por reacción de la hidantoína, dicetopiperazina o imida cíclica con el derivado halogenado adecuado en presencia de hidruro sódico y de N,N-dimetilformamida como disolvente de la reacción, según se representa en el esquema III.

- 9 -



Esquema III

10 Los intermedios de fórmula IV se obtienen por
reacción de la hidantoína, dicetopiperazina o imida
cíclica con el halonitrilo adecuado en presencia de
hidruro sódico y de N,N-dimetilformamida como disolvente
de la reacción, y posterior hidrogenación catalítica,
según se representa en el esquema IV.



20 Esquema IV

Algunos de los intermedios III y V son comerciales.
También es posible obtener dichos intermedios siguiendo
procedimientos descritos en la bibliografía o mediante
rutas sintéticas convencionales.

30 Los productos finales se han caracterizado
estructuralmente mediante técnicas de IR, RMN y análisis
elemental cuantitativo. Para una mayor facilidad de
manejo, cuando el producto final no es cristalino se
transforma en una sal farmacéuticamente aceptable,
derivada de un ácido inorgánico u orgánico.

35 Mediante ensayos de desplazamiento de radioligandos
se ha evaluado la afinidad in vitro de los compuestos de
fórmula general I en los receptores cerebrales 5-HT_{1A}, 5-

- 10 -

HT_{2A}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₇, α₁ y D₂. Se han utilizado los siguientes ligandos específicos y tejidos:

- 5 (a) receptores 5-HT_{1A}, [³H]-8-OH-DPAT, corteza cerebral de rata;

(b) receptores 5-HT_{2A}, [³H]ketanserina, corteza cerebral de rata;

(c) receptores 5-HT₃, [³H]LY 278584, corteza cerebral de rata;

10 (d) receptores 5-HT₄, [³H]GR 113808, cuerpo estriado de rata;

(e) receptores 5-HT₇, [³H]-5-CT, hipotálamo de rata;

15 (f) receptores α₁, [³H]prazosín, corteza cerebral de rata;

(g) receptores D₂, [³H]espiperona, cuerpo estriado de rata.

El carácter funcional (agonista / antagonista) de los compuestos de la presente invención, se ha estudiado in vitro mediante la determinación de la inhibición del efecto estimulante de la forskolina sobre la adenilato-ciclasa en una línea celular transfectada con el receptor 5-HT_{1A}, comparando en ocasiones el efecto obtenido con el ensayo de fijación de [³⁵S]GTPγS a secciones coronales de cerebro de rata así como el efecto hiperpolarizante en el área CA1 del hipocampo, y estudiando además, in vivo, el carácter agonista 5-HT_{1A} de los nuevos compuestos mediante el análisis de los efectos conductuales típicos así como de la hipotermia y evaluando la prevención de estos efectos por el antagonista selectivo WAY-100635.

Por otro lado, se ha estudiado la actividad neuroprotectora de los compuestos descritos en la presente invención, considerando la capacidad de estos para prevenir la muerte celular, de índole necrótica o

- 11 -

apóptótica, en cultivos neuronales primarios y estudiando in vivo la prevención de la muerte neuronal en el área CA1 del hipocampo de gerbos tras isquemia global transitoria así como la reducción del volumen de infarto cerebral tras oclusión permanente de la arteria cerebral media en ratas.

La presente invención se ilustra con los siguientes ejemplos no limitativos.

10

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Síntesis de los compuestos de fórmula general
I. Procedimiento general.

15

Sobre 1,5 mmol de la amina intermedia III ó IV disuelta en 2 mL de acetonitrilo, se adiciona gota a gota una disolución de 1,0 mmol del derivado halogenado II ó V en 1,5 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se calienta a 60°C con agitación durante 6-24 horas (c.c.f.). Tras enfriar, el disolvente se elimina a presión reducida, el residuo se disuelve en cloruro de metileno (20 mL) y se lava con una disolución acuosa de carbonato potásico al 20%. A continuación, la fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se elimina a presión reducida. El aceite resultante se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice, obteniéndose el producto final en forma de base libre. El compuesto se aísla en forma de hidrocloruro y se purifica por recristalización. Los datos espectroscópicos de IR y RMN corresponden a la base libre.

(±)-2-[4-[(Croman-2-il)metilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 1.

- 12 -

Cromatografía: tolueno/metanol, 9:1. Rto: 35%. IR (CHCl₃, cm⁻¹): 1772, 1709, 1581, 1489, 1443. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,47-1,86 (m, 5H), 1,91-2,12 (m, 4H), 2,16-2,34 (m, 1H), 2,64-2,92 (m, 6H), 3,16-3,28 (m, 1H), 3,48 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,66 (dt, J = 11,2; 7,3 Hz, 1H), 4,05 (dd, J = 9,1; 7,3 Hz, 1H), 4,11-4,18 (m, 1H), 6,81 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,00-7,10 (m, 2H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 24,6; 25,6; 25,8; 26,9; 27,1; 27,5; 38,7; 45,4; 49,3; 54,1; 63,2; 75,0; 116,7; 120,1; 121,9; 127,1; 129,4; 154,5; 160,8; 10 173,9. Análisis calculado para C₂₁H₂₄N₂O₄S.HCl: C, 57,72; H, 5,77; N, 6,41, encontrado: C, 57,64; H, 5,96; N, 6,19.

EJEMPLO 2: (±)-2-[4-[(Croman-2-il)metilamino]butil]-1,3-dioxoperhidroimidazo[1,5-b]tiazol, 2.

15 Cromatografía: tolueno/etanol, 9,5:0,5. Rto: 43%; p.f. 149-151°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3400, 1770, 1718, 1610, 1558, 1488. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,48-1,86 (m, 5H), 2,01-2,10 (m, 1H), 2,59-3,18 (m, 9H), 3,53 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 3,95-4,27 (m, 1H), 4,49 (dd, 1H, J = 12,0; 6,0 Hz), 5,08 (s, 1H), 6,56-6,92 (m, 2H), 7,03-7,13 (m, 2H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 23,9; 24,4; 25,5; 25,9; 32,7; 39,1; 48,4; 54,0; 58,3; 63,2; 74,8; 116,7; 120,0; 122,0; 20 127,1; 129,4; 154,6; 159,6; 171,6. Análisis calculado para C₁₉H₂₄N₃O₃S.HCl: C, 55,40; H, 6,36; N, 10,20, encontrado: C, 55,38; H, 6,44; N, 9,87.

EJEMPLO 3: (±)-2-[4-[(Croman-2-il)metilamino]butil]-1,3-dioxoperhidroimidazo[1,5-c]-tiazol, 3.

30 Cromatografía: tolueno/etanol, 9,5:0,5. Rto: 38%; p.f. 142-144°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3400, 3500, 1770, 1716, 1582, 1540, 1508. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,49-1,74 (m, 5H), 1,98-2,05 (m, 1H), 2,60-2,84 (m, 6H), 35 3,12 (dd, J = 11,7; 5,8 Hz, 1H), 3,33 (dd, J = 13,5; 8,5 Hz, 1H), 3,52 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 4,12 (d, J = 9,9 Hz,

- 13 -

1H), 4,22-4,28 (m, 1H), 4,33 (dd, $J = 8,5; 5,8$ Hz, 1H),
5,01 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 6,77-6,88 (m, 2H), 7,04-7,13
(m, 2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 23,8; 24,4; 25,6; 25,9; 32,7;
39,1; 49,2; 54,1; 58,2; 64,4; 74,2; 116,7; 120,3; 122,0;
5 127,1; 129,5; 154,5; 159,6; 171,9. Análisis calculado
para $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3\text{S} \cdot \text{HCl}$: C, 55,40; H, 6,36; N, 10,20,
encontrado: C, 55,02; H, 6,44; N, 9,85.

EJEMPLO 4: (\pm) -3-[4-[(Croman-2-il)metilamino]butil]-2,4-dioxotiazolidina, 4.

Cromatografía: tolueno/etanol, 9,5:0,5. Rto: 45%; p.f.
126-127°C (acetato de etilo). IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3400,
1750, 1683, 1608, 1558, 1508. ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 1,47-
15 1,76 (m, 5H), 2,01-2,06 (m, 1H), 2,57-3,01 (m, 6H), 3,62
(t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,92 (s, 2H), 4,10-4,25 (m, 1H),
6,74-6,83 (m, 2H), 7,01-7,08 (m, 2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ):
24,2; 24,5; 25,3; 25,9; 33,7; 41,8; 54,2; 58,4; 74,3;
116,7; 120,0; 122,0; 127,1; 129,5; 154,5; 171,4; 171,8.
20 Análisis calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot \text{HCl}$: C, 55,05; H, 6,25;
N, 7,55, encontrado: C, 54,98; H, 6,33; N, 7,15.

EJEMPLO 5: (\pm) -3-[5-[(Croman-2-il)metilamino]pentil]-2,4-dioxotiazolidina, 5.

25 Cromatografía: tolueno/etanol, 20:1 → 8:2. Rto: 38%;
p.f. 172-174°C (cloroformo/acetato de etilo). IR (CHCl_3 ,
 cm^{-1}): 1751, 1682, 1683, 1608, 1581, 1488, 1456. ^1H -RMN
(CDCl_3 , δ): 1,25-2,04 (m, 8H), 2,67 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H),
30 2,75-2,94 (m, 4H), 3,63 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 3,92 (s,
2H), 4,08-4,17 (m, 1H), 6,78-6,85 (m, 2H), 7,01-7,11 (m,
2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 24,4; 24,6; 25,7; 27,4; 29,4;
33,7; 42,0; 49,6; 54,2; 75,0; 116,7; 120,2; 122,0; 127,2;
129,5; 154,6; 171,4; 171,7. Análisis calculado para
35 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot \text{HCl}$: C, 56,17; H, 6,55; N, 7,28, encontrado: C,
55,49; H, 6,49; N, 7,10.

- 14 -

EJEMPLO 6: (\pm) -3-[6-[(Croman-2-il)metilamino]hexil]-2,4-dioxotiazolidina, 6.

Cromatografía: tolueno/etanol, 20:1. Rto: 30%; p.f. 175-177°C (cloroformo/acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3416, 3321, 1751, 1670, 1608, 1581, 1489, 1456. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,25-2,01 (m, 10H), 2,66 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,76-2,95 (m, 4H), 3,62 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 3,93 (s, 2H), 4,09-4,19 (m, 1H), 6,78-6,85 (m, 2H), 7,01-7,11 (m, 2H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 24,6; 25,7; 26,6; 26,8; 27,5; 29,8; 33,7; 42,0; 49,8; 54,2; 75,1; 116,7; 120,2; 122,0; 127,2; 129,5; 154,6; 171,4; 171,7. Análisis calculado para C₁₉H₂₆N₂O₃S.HCl: C, 57,18; H, 6,82; N, 7,02, encontrado: C, 56,78; H, 6,72; N, 6,94.

15

EJEMPLO 7: 2-[4-[(Naft-1-il)metilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 7.

Cromatografía: acetato de etilo. Rto. 42%; p.f. 150-153°C (cloroformo/hexano). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3300-3500, 1770, 1708, 1696, 1510, 1442, 1416. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,48-1,71 (m, 5H), 1,99-2,08 (m, 2H), 2,16-2,24 (m, 1H), 2,74 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,16-3,24 (m, 1H), 3,47 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,64 (dt, J = 11,1; 7,8 Hz, 1H), 4,02 (dd, J = 9,3; 7,8 Hz, 1H), 4,20 (s, 2H), 7,37-7,54 (m, 4H), 7,74 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,82-7,85 (m, 1H), 8,08 (d, J = 8,4 Hz, 1H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 25,9; 27,0; 27,2; 27,5; 38,8; 45,5; 49,3; 51,6; 63,3; 123,6; 125,4; 125,6; 125,9; 126,1; 127,7; 128,7; 131,8; 133,9; 136,0; 160,9; 173,9. Análisis calculado para C₂₁H₂₅N₃O₂.HCl: C, 65,02; H, 6,76; N, 10,83, encontrado: C, 64,53; H, 6,71; N, 10,44.

35

EJEMPLO 8: 2-[4-[(Naft-2-il)metilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 8.

- 15 -

Cromatografía: cloroformo/metanol, 9:1. Rto: 25%; p.f. 125-127°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3417, 1769, 1707. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,52-1,80, 1,92-2,23 (m, 3H), 2,80 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,13-3,25 (m, 1H), 3,42 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,56-3,74 (m, 1H), 4,06-4,13 (m, 3H), 5,19 (sa, 1H), 7,45-7,50 (m, 2H), 7,61 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,78-7,92 (m, 4H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 25,2; 26,8; 27,3; 29,5; 37,8; 45,3; 46,2; 51,5; 63,2; 126,3; 126,4; 126,7; 127,5; 127,8; 128,6; 129,0; 130,0; 132,9; 10 133,0; 160,5; 173,8. Análisis calculado para C₂₁H₂₅N₃O₂.HCl.H₂O: C, 62,14; H, 6,95; N, 10,35, encontrado: C, 62,54; H, 7,06; N, 9,95.

EJEMPLO 9: 2-[4-[2-(Naft-1-il)etilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 9.

Cromatografía: acetato de etilo/etanol, 1:1. Rto: 48%; p.f. 95-97°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3400 (NH), 1770, 1710. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,56-1,78 (m, 5H), 2,00-2,28 (m, 3H), 2,72 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,02 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,11-3,38 (m, 3H), 3,48 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,63-3,74 (m, 1H), 4,01-4,10 (m, 1H), 7,37-7,54 (m, 4H), 7,71-7,76 (m, 1H), 7,82-7,86 (m, 1H), 7,08-7,13 (m, 1H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 27,9; 27,0; 27,1; 27,6; 33,4; 37,8; 45,5; 49,3; 50,4; 63,3; 123,7; 125,5; 125,9; 126,6; 127,0; 128,8; 132,0; 134,0; 136,0; 160,8; 174,0. Análisis calculado para C₂₂H₂₇N₃O₂.HCl.H₂O: C, 62,92; H, 7,20; N, 10,01, encontrado: C, 63,40; H, 7,09; N, 9,61.

EJEMPLO 10: 3-[4-[2-(Naft-1-il)etilamino]butil]-2,4-dioxotiazolidina, 10.

Cromatografía: acetato de etilo. Rto: 37%; p.f. 128-129°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 1751, 1682, 1682, 1510. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,52-1,63 (m, 4H), 2,70 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,94 (s, 1H), 3,03 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 3,32

- 16 -

(t, $J = 7,6$ Hz, 2H) 3,62 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,93 (s, 2H), 7,33-7,55 (m, 4H), 7,71-7,75 (m, 1H), 7,83-7,88 (m, 1H), 8,04-8,08 (m, 1H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 25,4; 26,3; 32,7; 33,8; 41,7; 48,7; 49,9; 123,7; 125,7; 125,8; 126,1; 126,8; 127,3; 128,9; 131,0; 134,0; 135,4; 171,0; 171,5. Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$. HCl: C, 60,82; H, 6,85; N, 7,09, encontrado: C, 62,87; H, 6,45; N, 6,90.

10 EJEMPLO 11: 2-[4-[2-(Naft-2-il)etilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 11.

Cromatografía: acetato de etilo/etanol, 9:1. Rto: 25%; p.f. 130-132°C (acetato de etilo). IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3421, 1769, 1705. ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 1,59-1,89 (m, 5H), 2,03-2,27 (m, 3H), 2,98 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 3,01-3,32 (m, 5H), 3,47 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,57-3,77 (m, 1H), 4,05 (dd, $J = 9,3$; 7,3 Hz, 1H), 6,29 (sa, 1H), 7,32-7,48 (m, 3H), 7,68-7,80 (m, 4H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 25,4; 27,1; 27,5; 31,2; 33,1; 37,9; 45,5; 47,1; 49,1; 63,4; 125,5; 125,8; 126,2; 126,9; 127,4; 127,6; 128,6; 131,8; 133,5; 139,5; 160,7; 174,1. Análisis calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 62,92; H, 7,20; N, 10,01, encontrado: C, 63,34; H, 7,46; N, 9,65.

25 EJEMPLO 12: 2-[4-[2-(Fenoxi)etilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 12.

Cromatografía: tolueno/etanol, 9,5:0,5. Rto: 54%. p.f. 145-147°C (acetato de etilo). IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3315, 1770, 1709, 1599, 1587, 1497. ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 1,47-1,77 (m, 6H), 1,98-2,29 (m, 3H), 2,70 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,99 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H), 3,23 (ddd, $J = 11,2$; 7,6; 5,2 Hz, 1H), 3,49 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 3,67 (dt, $J = 11,2$; 7,6 Hz, 1H), 4,02-4,10 (m, 3H), 6,87-6,98 (m, 3H), 7,23-7,32 (m, 2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 26,0; 27,1; 27,3; 27,7; 38,9; 45,7; 48,9; 49,4; 63,4; 67,3; 114,7; 121,0;

- 17 -

129,6; 158,3; 160,7; 174,0. Análisis calculado para C₁₈H₂₅N₃O₃.HCl: C, 58,77; H, 7,12; N, 11,42, encontrado: C, 58,79; H, 7,04; N, 11,16.

5 EJEMPLO 13: 3-[4-[2-(Fenoxi)etilamino]butil]-2,4-dioxotiazolidina, 13.

Cromatografía: acetato de etilo → acetato de etilo/etanol, 9:1. Rto: 37%; p.f. 173-174°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3413, 3327, 1751, 1685, 1599, 1587, 1497. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,48-1,72 (m, 4H), 2,70 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,99 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,65 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,93 (s, 2H), 4,06 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 6,88-6,98 (m, 3H), 7,23-7,32 (m, 2H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 25,4; 27,1; 33,7; 41,8; 48,8; 49,1; 67,1; 114,5; 120,8; 129,4; 158,8; 171,4; 171,5. Análisis calculado para C₁₅H₂₀N₂O₃S.HCl: C, 52,17; H, 6,14; N, 8,12, encontrado: C, 51,77; H, 6,04; N, 8,10.

20 EJEMPLO 14: 2-[4-[2-(Naft-1-oxi)etilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 14.

Cromatografía: acetato de etilo → acetato de etilo/etanol, 9:1. Rto: 43%; p.f. 163-164°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3354, 1771, 1707, 1582, 1508. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,58-1,77 (m, 5H), 1,93-2,30 (m, 3H), 2,86 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,15-3,27 (m, 3H), 3,49 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,60-3,73 (m, 1H), 4,05 (dd, J = 9,0; 7,3 Hz, 1H), 4,30 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 6,80 (dd, J = 8,5; 1,2 Hz, 1H), 7,31-7,53 (m, 4H), 7,75-7,83 (m, 1H), 8,22-8,28 (m, 1H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 25,7; 26,3; 27,0; 27,5; 38,5; 45,5; 48,3; 48,8; 63,3; 66,7; 104,9; 120,6; 121,9; 125,3; 125,8; 126,4; 127,5; 125,5; 134,5; 154,3; 160,8; 174,0. Análisis calculado para C₂₂H₂₇N₃O₃.HCl.H₂O: C, 60,61; H, 6,94; N, 9,64, encontrado: C, 61,00; H, 6,57; N, 9,46.

- 18 -

EJEMPLO 15: 3-[4-[2-(Naft-1-oxi)etilamino]butil]-2,4-dioxotiazolidina, 15.

Cromatografía: acetato de etilo → acetato de etilo/etanol, 9:1. Rto: 46%; p.f. 149-151°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3332, 1684, 1582, 1508. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,58-1,70 (m, 4H), 2,81 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,17 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,65 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,92 (s, 2H), 4,27 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 6,81 (dd, J = 7,1; 1,5 Hz, 1H), 7,30-7,56 (m, 4H), 7,75-7,83 (m, 1H), 8,22-8,38 (m, 1H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 25,3; 26,7; 33,7; 41,7; 48,5; 48,9; 67,1; 104,9; 120,5; 121,9; 125,2; 125,8; 126,4; 127,5; 125,6; 134,5; 154,4; 171,4; 171,5. Análisis calculado para C₁₉H₂₂N₂O₃S.HCl: C, 57,79; H, 5,87; N, 7,09, encontrado: C, 57,75; H, 5,79; N, 6,59.

EJEMPLO 16: 2-[4-[(Bencimidazol-2-il)metilamino] butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 16.

Cromatografía: tolueno/etanol, 9,5:0,5. Rto: 50%; p.f. 208-210°C (acetato de etilo). IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3400, 1775, 1714. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,42-1,70 (m, 5H), 1,92-2,28 (m, 3H), 2,63 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,13-3,25 (m, 1H), 3,43 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,55-3,64 (m, 1H), 4,00 (m, 2H), 7,10-7,18 (m, 2H), 7,47-7,53 (m, 2H). ¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 25,4; 26,2; 27,0; 27,5; 38,4; 45,4; 47,6; 48,5; 63,3; 115,0; 122,0; 139,0; 154,0; 160,8; 174,0.

EJEMPLO 17: 2-[4-[(o-Metoxifenil)metilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 17.

Cromatografía: acetato de etilo/hexano. Rto: 42%; aceite. IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3016-2837, 1770, 1706, 1600, 1492, 1442, 1415, 1242. ¹H-RMN (CDCl₃, δ): 1,47-1,72 (m, 3H), 1,95-2,09 (m, 2H), 2,17-2,28 (m, 1H), 2,59 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,18-3,26 (m, 1H), 3,45 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,65

- 19 -

(dt, $J = 11,1; 7,9$ Hz, 1H), 3,76 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,04 (dd, $J = 9,3; 7,9$ Hz, 1H), 6,83-6,91 (m, 2H), 7,20-7,25 (m, 2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 24,4; 26,0; 27,0; 27,5; 38,9; 45,5; 47,1; 53,3; 63,3; 110,1; 120,3; 127,1; 130,3; 5 157,5; 160,9; 174,0. Análisis calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot \text{HCl} \cdot 3/2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 54,88; H, 7,16; N, 10,67, encontrado: C, 54,52; H, 7,09; N, 10,52.

EJEMPLO 18: 2-[4-[2-(o-Metoxifenil)etilamino]butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 18.

Cromatografía: acetato de etilo/hexano. Rto. 25%; p.f. 160-162°C (cloroformo/hexano). IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3018-2899, 1770, 1709, 1495, 1443, 1418, 1244. ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 1,60-1,77 (m, 5H), 1,96-2,27 (m, 3H), 2,75 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,92 (s, 4H), 3,15-3,27 (m, 1H), 3,45 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,65 (dt, $J = 11,0; 7,6$ Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 4,05 (dd, $J = 9,0; 7,3$ Hz, 1H), 4,62 (sa, 1H), 6,80-6,89 (m, 2H), 7,13-7,22 (m, 2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 25,6; 15 27,0; 27,5; 27,5; 29,7; 38,4; 45,5; 48,3; 48,7; 55,2; 63,3; 110,3; 120,5; 127,2; 127,7; 130,4; 157,5; 160,7; 20 173,9. Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 57,20; H, 7,33; N, 10,53, encontrado: C, 57,43; H, 7,03; N, 10,41.

25

EJEMPLO 19: 2-[4-[3-(o-Metoxifenil)propilamino] butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-c]imidazol, 19.

Cromatografía: tolueno/metanol. Rto: 52%; aceite. IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3018-2700, 1772, 1709, 1492, 1442, 1418, 1244. ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 1,60-1,81 (m, 5H), 1,93-2,34 (m, 5H), 2,67 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,77 (m, 4H), 3,16-3,28 (m, 1H), 3,46 (t, $J = 6,6$ Hz), 3,67 (dt, $J = 11,1; 7,6$ Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 4,07 (dd, $J = 9,3; 7,3$ Hz, 1H), 6,81-6,90 (m, 2H), 7,10-7,21 (m, 2H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ): 24,9; 25,6; 27,1; 27,5; 27,6; 27,9; 38,3; 45,6; 48,1; 35

- 20 -

48,4; 55,4; 63,4; 110,4; 120,6; 127,4; 129,3; 130,0;
 157,4; 160,8; 174,0. Análisis calculado para
 $C_{20}H_{28}N_3O_3 \cdot HCl \cdot 3/2H_2O$: C, 56,93; H, 7,64; N, 9,93,
 encontrado: C, 57,23; H, 7,21; N, 9,40.

5

EJEMPLO 20: 2-[4-[4-(*o*-Metoxifenil)butilamino] butil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-*c*]imidazol, 20.

10 Cromatografía: cloroformo/metanol, 9,5:0,5. Rto: 27%
 (aceite). IR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3700, 1770, 1709, 1601, 1443,
 1495, 1585, 1215. 1H -RMN ($CDCl_3$, δ): 1,58-1,74 (m, 9H),
 2,01-2,11 (m, 2H), 2,17-2,27 (m, 1H), 2,60 (t, J = 7,3
 Hz, 2H), 2,65-2,70 (m, 4H), 3,18-3,26 (m, 1H), 3,46 (t, J
 = 6,8 Hz, 2H), 3,66 (dt, J = 11,2; 7,6 Hz, 1H), 3,79 (s,
 15 3H), 4,05 (dd, J = 9,0; 7,6 Hz, 1H), 6,80-6,87 (m, 2H),
 7,09-7,17 (m, 2H). ^{13}C -RMN ($CDCl_3$, δ): 23,4; 25,2; 26,3;
 27,0; 27,4; 29,6; 37,8; 45,4; 47,1; 47,8; 55,1; 63,4;
 110,1; 120,3; 127,1; 129,7; 129,9; 157,2; 160,6; 173,9.
 20 Análisis calculado para $C_{21}H_{31}N_3O_3 \cdot HCl \cdot 3/2H_2O$: C, 60,31; H,
 7,95; N, 10,05, encontrado: C, 60,70; H, 7,56; N, 9,77.

EJEMPLO 21: 2-[3-[3-(*o*-Metoxifenil)propilamino] propil]-1,3-dioxoperhidropirrolo[1,2-*c*]imidazol, 21.

25 Cromatografía: cloroformo/metanol, 9,5:0,5. Rto: 27%
 (aceite). IR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3700, 1770, 1707, 1601, 1587,
 1493, 1445, 1215. 1H -RMN ($CDCl_3$, δ): 1,62-1,86 (m, 5H),
 2,02-2,32 (m, 3H), 2,56-2,67 (m, 6H), 3,24 (m, 1H), 3,54
 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,67 (dt, J = 11,2; 7,6 Hz, 1H),
 3,81 (s, 3H), 4,06 (dd, J = 9,0; 7,3 Hz, 1H), 6,81-6,91
 (m, 2H), 7,10-7,22 (m, 2H). ^{13}C -RMN ($CDCl_3$, δ): 26,9;
 27,5; 27,8; 28,4; 30,0; 36,9; 45,5; 46,7; 49,5; 55,2;
 63,3; 110,2; 120,3; 127,0; 129,8; 130,5; 157,4; 160,9;
 30 174,0. Análisis calculado para $C_{18}H_{25}N_3O_3 \cdot HCl \cdot 3H_2O$: C,
 51,24; H, 7,64; N, 9,96, encontrado: C, 51,26; H, 7,25;
 35 N, 9,57.

- 21 -

EJEMPLO 22: Determinación de la afinidad receptorial.

Los estudios bioquímicos de determinación de la afinidad de los compuestos sintetizados se han realizado mediante experimentos de desplazamiento de radioligandos. Realizándose experimentos de determinación de la afinidad receptorial para los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₇, α₁ y D₂.

Las condiciones para cada receptor estudiado se resumen en la tabla 1 siguiente, mientras que los datos de afinidad receptorial se resumen en la tabla 2 siguiente.

35
30
25
20
15
10
5

Tabla 1. Condiciones utilizadas para la determinación de la afinidad receptorial.

Receptor	Radiolíngido	Tejido	Unión inespecífica	Condiciones de incubación		
				Medio	Temperatura	Tiempo
5-HT _{1A}	[³ H]-8-OH-DPAT	Corteza cerebral de rata	5-HT 10 µM	1	37°C	15 min
5-HT _{2A}	[³ H]Ketanserina	Corteza cerebral de rata	Cinanserina 1 µM	2	37°C	15 min
5-HT ₃	[³ H]LY 278584	Corteza cerebral de rata	5-HT 10 µM	3	25°C	30 min
5-HT ₄	[³ H]GR 113808	Cuerpo estriado de rata	5-HT 30 µM	4	37°C	30 min
5-HT ₇	[³ H]-5-CT	Hipotálamo de rata	5-HT 10 µM	5	23°C	120 min
α ₁	[³ H]prazosin	Corteza cerebral de rata	Fentolamina 10 µM	6	25°C	30 min
D ₂	[³ H]espiperona	Cuerpo estriado de rata	(±)Butaclamol 1 µM	7	37°C	15 min

Medios de incubación:

1. MgSO₄ 5 mM y EDTA 0,5 mM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4
2. MgSO₄ 10 mM, EDTA 0,5 mM, ácido ascórbico 0,1% y pargolina 10 µM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4
3. Pargolina 10 µM, ácido ascórbico 0,6 mM y CaCl₂ 5 mM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4
4. HEPES 50 mM, pH 7,4
5. CaCl₂ 4 mM, ácido ascórbico 1 mg/mL, pargolina 0,01 mM y (-)pindolol 3 µM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4
6. MgCl₂ 2,5 mM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4
7. NaCl 120 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 1 mM y ácido ascórbico 5,7 mM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4

- 23 -

Tabla 2. Datos de afinidad receptorial obtenidos.

Compuesto	$K_1 \pm E.E.$ (nM)	$K_1 \pm E.E.$ (nM)	$K_1 \pm E.E.$ (nM)	$K_1 \pm E.E.$ (nM)	α_1	D_2
5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₃	5-HT ₄	5-HT ₇		
1 1,23 ± 0,09	>10000	>10000	>10000	299,3 ± 7,7	121,1 ± 1,8	>10000
2 19,9 ± 6,0	>1000	>1000	>10000	492,7 ± 1,5	50,0 ± 6,2	>10000
3 13,2 ± 1,0	>1000	>10000	>10000	>1000	8,5 ± 0,6	>10000
4 30,1 ± 0,6	>1000	>10000	>10000	168,8 ± 18,1	>1000	>10000
5 5,5 ± 0,4	>1000	>10000	>10000	123,0 ± 17,8	27,7 ± 4,0	>10000
6 1,3 ± 0,2	>1000	>10000	>10000	87,0 ± 3,1	26,3 ± 2,4	>10000
7 >1000	>1000	>10000	>10000	>10000	49,6 ± 2,9	>10000
8 51,01 ± 0,47	>1000	ND	ND	8,04 ± 0,87	>10000	>10000
9 27,9 ± 3,1	>10000	>10000	>10000	>10000	>1000	>10000
10 15,0 ± 1,0	>1000	>1000	>1000	>10000	>1000	>10000
11 43,2 ± 4,5	157,3 ± 0,65	>10000	594,3 ± 43,7	74,05 ± 7,3	99,05 ± 14	ND
12 25,5 ± 0,9	>10000	>1000	>10000	>1000	>1000	>10000
13 9,8 ± 0,7	>10000	>10000	>10000	55,0 ± 0,3	26,9 ± 4,5	>10000
14 2,4 ± 0,6	41,5 ± 7,5	>10000	>10000	42,6 ± 4,4	30,9 ± 4,9	>1000
15 4,5 ± 0,2	38,5 ± 7,7	>10000	ND	19,9 ± 0,8	54,7 ± 1,8	>10000
16 >10000	>10000	>1000	>10000	>10000	>1000	>10000
17 >10000	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18 868,5 ± 23,1	>10000	ND	>10000	>10000	>10000	>10000
19 73,9 ± 5,0	>1000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000
20 137,6 ± 26,3	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000
21 >1000	>10000	>10000	>10000	53,8 ± 3,3	4,2 ± 0,5	-
5-HT	0,84 ± 0,27	5,9 ± 0,2	13,8 ± 2,4	-	83,8	-
8-OH-DPAT	1,0 ± 0,1	-	-	-	-	-
Cinanserina	-	2,6 ± 0,4	-	-	-	-
Ondansetron	-	-	0,77 ± 0,01	-	-	-
RS-39604	-	-	-	3,9 ± 0,2	-	-
5-CT	-	-	-	-	1,8 ± 0,6	-
Fentolamina	-	-	-	-	6,1 ± 0,1	-
Butaclamol	-	-	-	-	-	49,0 ± 5,8

EJEMPLO 23: Caracterización funcional in vitro.

El carácter funcional de los nuevos compuestos fue inicialmente determinado mediante el estudio de su efecto sobre la adenilato ciclase en células He-La transfectadas con el receptor 5-HT_{1A} humano, midiendo su efecto inhibidor sobre la estimulación de la enzima inducida por forskolina (tabla 3 siguiente). Los compuestos incluidos en esta tabla se comportaron en todos los casos como agonistas puros, de forma que se alcanzaron valores cercanos al 100% de inhibición de la activación inducida por forskolina. La concentración efectiva 50 (CE₅₀), concentración que produce el 50% de inhibición del aumento de actividad enzimática por forskolina, estuvo en el rango nanomolar. La acción de los nuevos compuestos en este ensayo estuvo mediada por el receptor 5-HT_{1A}, como puede deducirse del bloqueo del efecto de todos los compuestos estudiados por el antagonista 5-HT_{1A} selectivo WAY-100635 (10^{-8} M).

20

TABLA 3. Ensayo sobre adenilato ciclase en células He-La

Compuesto nº	CE ₅₀ (nM)	% Inhibición máxima
1	16,3	94,6
2	18,9	94,5
3	31,5	89,3
4	11,6	89,6
12	76,2	87,4

El carácter agonista in vitro de los nuevos compuestos fue también valorado en algunos casos mediante el ensayo de fijación de [³⁵S]-GTPγS a secciones coronales de cerebro de rata. En este ensayo, los resultados obtenidos con los compuestos nº 1 y nº 3, a una concentración 10 μM, fueron esencialmente similares a

- 25 -

los obtenidos con el prototipo de agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT. En los autorradiogramas, se observó un aumento de la intensidad de la señal en hipocampo (CA1, CA2, CA3 y giro dentado), núcleos talámicos, complejo amigdaloide, 5 corteza y en los núcleos del hipotálamo mediobasal. El aumento de la intensidad del marcaje en estas áreas cerebrales se redujo hasta alcanzar los niveles control cuando la incubación se realizó en presencia conjunta de la molécula en estudio y del antagonista 5-HT_{1A} selectivo 10 WAY-100635 (1 µM).

Los cinco compuestos incluidos en la tabla 3 produjeron asimismo hiperpolarización del potencial de las neuronas del área CA1 hipocámpica. Mediante la 15 realización de curvas dosis-efecto, se observó que la acción de los compuestos nº 1 y nº 2 en este ensayo fue indistinguible en potencia a la del agonista tipo 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT.

20 EJEMPLO 24: Caracterización funcional in vivo.

Todos los compuestos previamente caracterizados in vitro como agonistas 5-HT_{1A} (tabla 3) fueron administrados por vía subcutánea a ratones para cuantificar la hipotermia asociada a la estimulación de este subtipo de receptor serotonérgico. En todos los casos se observó una disminución de la temperatura rectal del ratón, de una duración variable comprendida entre 30 y 120 minutos. En la tabla 4 siguiente se presentan las 25 dosis mínimas efectivas para cada compuesto estudiado y el grado de hipotermia alcanzada a esta dosis. El efecto hipotérmico máximo se alcanzó con dosis 4-8 veces superiores a las indicadas en esta tabla 4, llegándose a 30 alcanzar en algunos casos descensos de temperatura de 35 4°C.

TABLA 4. Ensayo de hipotermia en ratón

Compuesto nº	Dosis mínima efectiva (mg/kg)	Efecto hipotérmico (°C)
1	2,5	1,4
2	1,25	1,5
3	1,25	1,3
4	0,3	2,0
12	2,5	1,4

EJEMPLO 25: Determinación de la acción neuroprotectora in vitro.

El efecto neuroprotector de los compuestos considerados se estudió en modelos experimentales in vitro, empleando cultivos primarios de hipocampo de rata expuestos a privación de suero, a una concentración tóxica de glutamato, o incubados en condiciones de hipoxia y ausencia de glucosa.

En el modelo de muerte neuronal apoptótica inducida por incubación de cultivos mixtos de neuronas y células gliales durante 24 horas en un medio sin suero cabe destacar el efecto neuroprotector del compuesto nº 1, con el que se observó un efecto concentración-dependiente que fue incluso superior (más de un 40% de protección) al obtenido con el agonista 8-OH-DPAT. También se mostraron efectivos otros compuestos, como los nº 4 y nº 12, aunque en ambos casos el grado de protección encontrado fue algo menor a las distintas concentraciones empleadas en los ensayos.

25

En el modelo de muerte neuronal excitotóxica por exposición de cultivos neuronales a glutamato 1 mM, el compuesto nº 1 fue el que previno de modo más efectivo (37%) el daño asociado. Asimismo, este compuesto presentó

- 27 -

un efecto neuroprotector (> 20%) en el modelo de muerte neuronal por exposición de los cultivos a una situación transitoria de hipoxia en ausencia de glucosa y posterior incubación en atmósfera de 5% CO₂.

5

EJEMPLO 26: Determinación de la acción neuroprotectora in vivo.

La acción neuroprotectora in vivo se evaluó tanto
10 en el modelo de isquemia global transitoria en gerbos como en el modelo de isquemia focal permanente en rata.

En el modelo de isquemia transitoria en gerbos inducida por oclusión temporal de ambas arterias
15 carótidas la administración 30 minutos antes de la inducción de la isquemia y 24 y 48 horas después de la misma de los compuestos nº 1 y nº 12 previno de modo significativo la lesión inducida por el proceso isquémico en el área CA1 del hipocampo, que fue valorada mediante
20 tinción de Nissl. El efecto neuroprotector fue dosis-dependiente, entre 1-5 mg/kg por vía subcutánea, alcanzándose con el compuesto nº 1 un grado de protección total de la lesión en aproximadamente la mitad de los animales a la dosis de 5 mg/kg. Esta protección se vio acompañada de un efecto hipotérmico, dependiente asimismo
25 de la dosis administrada.

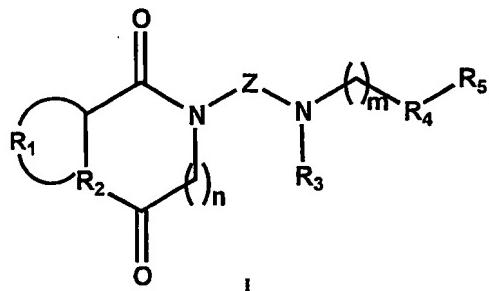
En el modelo de isquemia focal por oclusión permanente de la arteria cerebral media en la rata, la
30 administración del compuesto nº 1 por vía intravenosa, 45 minutos antes y 45 minutos después de la oclusión, redujo significativamente el volumen de la zona infartada. Concretamente, a la dosis de 2 mg/kg, el volumen de infarto disminuyó en más de un 25%.

35

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula general I:

5



10

donde:

R₁ se selecciona entre el grupo formado por H, -(CH₂)₃-, -(CH₂)₄-, -CH₂-S-CH₂, -S-CH₂-CH₂-;

R₂ se selecciona entre el grupo formado por N, S;

15 n tiene un valor de 0 ó 1;

Z se selecciona entre el grupo formado por C₂-C₁₀-alquilo, C₂-C₁₀-alquenilo, C₂-C₁₀-alquinilo;

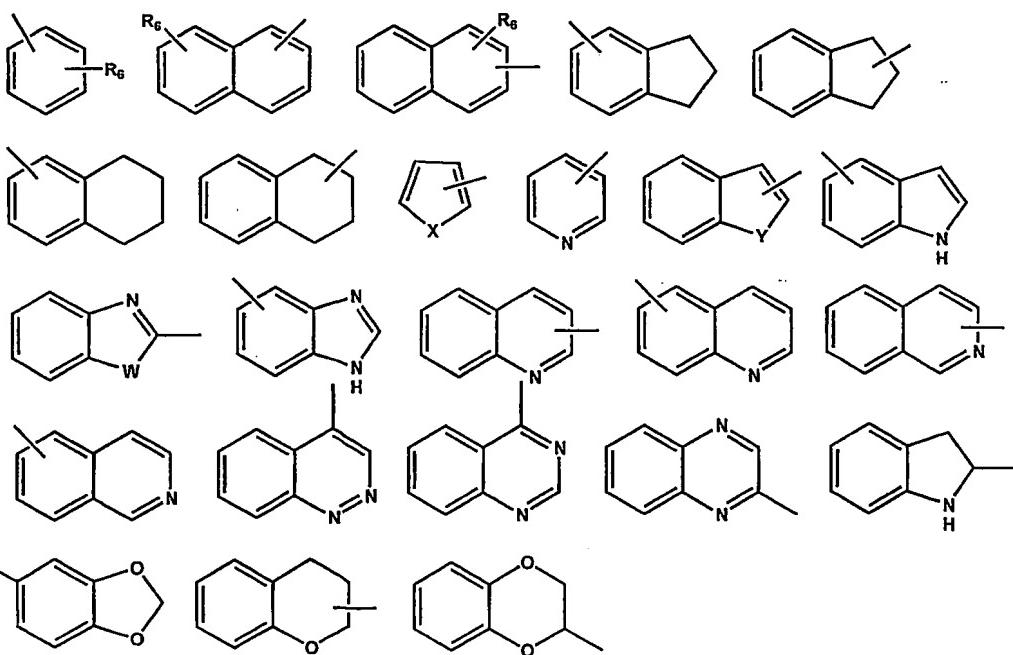
R₃ se selecciona entre el grupo formado por H, C₁-C₁₀-alquilo, arilo, aralquilo;

20 m tiene un valor de 0 a 2;

R₄ se selecciona entre el grupo formado por O, CH₂;

R₅ se selecciona entre el grupo formado por:

25



30

35

- 29 -

donde:

R₆ se selecciona entre el grupo formado por H, C1-C5-alquilo, C1-C5-alcoxilo, OH, F, Cl, Br, I;

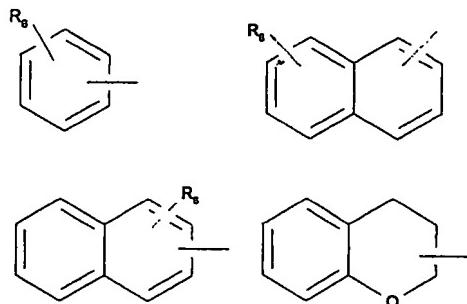
5 X se selecciona entre el grupo formado por O, S, NH,
NCH₃;

Y se selecciona entre el grupo formado por O, NH;

W se selecciona entre el grupo formado por S, NH;
y sus sales y solvatos.

10 2.- Un compuesto según la reivindicación 1,
caracterizado porque Z representa un grupo C2-C10-alquilo
y R₅ se selecciona entre el grupo formado por:

15



20

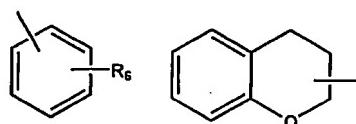
donde:

R₆ se selecciona entre el grupo formado por H, C1-C5-alquilo, C1-C5-alcoxilo, OH, F, Cl, Br, I.

25

3.- Un compuesto según cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 2, caracterizado porque Z es butilo,
R₃ es H y R₅ se selecciona entre el grupo formado por:

30



donde:

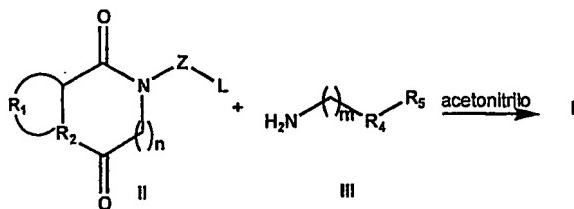
35 R₆ se selecciona entre el grupo formado por H, C1-C5-alquilo, C1-C5-alcoxilo, OH, F, Cl, Br, I.

- 30 -

4.- Un procedimiento para la preparación de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 3, caracterizado porque:

5 (A) se hacen reaccionar los derivados halogenados intermedios II, donde L significa Cl, Br, con las aminas III en acetonitrilo, según el esquema de reacción I:

10

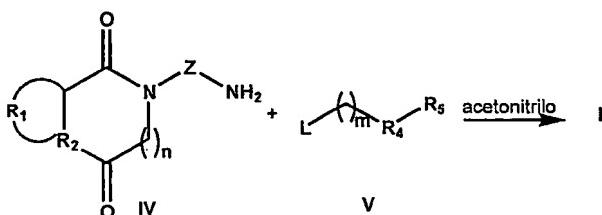


Esquema I

15

(B) se hacen reaccionar las aminas intermedias IV con los derivados halogenados adecuados V, donde L significa Cl, Br, en acetonitrilo, según el esquema de reacción II:

20



Esquema II

25

donde las definiciones de R₁, R₂, n, Z, m, R₄ y R₅ en estos Esquemas son idénticas a las realizadas anteriormente para los productos de la invención.

30

5.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque aquellos compuestos con R₃ distinto de H se obtienen por alquilación de los análogos en los que R₃ es hidrógeno.

35

6.- Composición farmacéutica caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de uno cualquiera de los compuestos definidos en las

- 31 -

reivindicaciones precedentes 1 a 3 junto con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

7.- Uso de un compuesto según cualquiera de las
5 reivindicaciones anteriores 1 a 3, para la elaboración de
un medicamento para el tratamiento y/o prevención de
estados patológicos en los que están indicados los
agonistas de los receptores 5-HT_{1A}.

10 8.- Uso de un compuesto según cualquiera de las
reivindicaciones anteriores 1 a 3, para la elaboración de
un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis del
daño cerebral producido por el ictus tromboembólico o por
traumatismos craneoencefálicos.

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 03/00394

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

CIP⁷ C07D 487/04, 513/04, 277/04, A61K 31/4188, 31/381, A61P 9/10// (C07D 487/04, 209:00, 235:00) (C07D 513/04, 235/00, 277:00) C07D 311/58

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7: C07D, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ES 2052829 A (BAYER AG) 16.07.1994, pages 2-3.	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 October 2003 (15.10.2003)

Date of mailing of the international search report

28 OCT 2003 28.10.03

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O.

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No

PCT/ ES 03/00394

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
ES 2052829 A	16.07.1994	AU 3898989 A	01.02.1990
		AU 627478 B	27.08.1992
		AT 104668 T	15.05.1994
		CA 1341162 C	02.01.2001
		CN 1039809 A	21.02.1990
		DE 58907493 D	26.05.1994
		DE 3901814 A	01.02.1990
		DD287500 A	28.02.1991
		DK 371389 A	29.01.1990
		EP 352613 AB	31.01.1990
		FI 893571 A	29.01.1990
		HK 38695 A	24.03.1995
		HU 58036 A	28.01.1992
		HU 221296 B	28.09.2002
		HU 211160 B	30.10.1995
		IE 62704 B	22.02.1995
		IL 91126 A	30.03.1995
		JP 2096552 A	09.04.1990
		KR 183006 B	01.05.1999
		NO 177144 B, C	18.04.1995
		NZ 2300071 A	26.03.1992
		PT 91299 A, B	28.02.1990
		SG12595 G	16.06.1995
		US 5137901 A	11.08.1992
		US 5300523 A	05.04.1994
		US 5506246 A	09.04.1996
		US 5585392 A	17.12.1996
		ZA 8905713 A	25.04.1990

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 03/00394

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁷ C07D 487/04, 513/04, 277/04, A61K 31/4188, 31/381, A61P 9/10// (C07D 487/04, 209:00, 235:00) (C07D 513/04, 235/00, 277:00) C07D 311/58

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

CIP⁷ C07D, A61K, A61P

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	ES 2052829 A (BAYER AG) 16.07.1994, páginas 2-3.	1-8

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.		
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.		
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de "X" prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).		documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a "Y" una exposición o a cualquier otro medio.		documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 15 Octubre 2003 (15.10.2003)	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional 28 OCT 2003
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la Búsqueda internacional C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.	Funcionario autorizado H. Aylagas Cancio

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 03/00394

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
ES 2052829 A	16.07.1994	AU 3898989 A AU 627478 B AT 104668 T CA 1341162 C CN 1039809 A DE 58907493 D DE 3901814 A DD287500 A DK 371389 A EP 352613 AB FI 893571 A HK 38695 A HU 58036 A HU 221296 B HU 211160 B IE 62704 B IL 91126 A JP 2096552 A KR 183006 B NO 177144 B, C NZ 2300071 A PT 91299 A, B SG12595 G US 5137901 A US 5300523 A US 5506246 A US 5585392 A ZA 8905713 A	01.02.1990 27.08.1992 15.05.1994 02.01.2001 21.02.1990 26.05.1994 01.02.1990 28.02.1991 29.01.1990 31.01.1990 29.01.1990 24.03.1995 .28.01.1992 28.09.2002 30.10.1995 22.02.1995 30.03.1995 09.04.1990 01.05.1999 18.04.1995 26.03.1992 28.02.1990 16.06.1995 11.08.1992 05.04.1994 09.04.1996 17.12.1996 25.04.1990